

基因多态性与动脉粥样硬化性心血管疾病相关性的研究进展

许伟伟 综述, 范乐明 审校

(南京医科大学动脉粥样硬化研究中心, 江苏省南京市 210029)

[关键词] 病理学与病理生理学; 动脉粥样硬化; 心血管疾病; 基因多态性

[摘要] 心血管疾病是影响人类生命和健康的重要疾病。导致心血管病发病的因素有很多, 其中遗传方面的因素近几年来渐被重视, 特别是与心血管病发病过程紧密相关的基因多态性倍受关注, 且已取得可喜成果, 但也存在不少问题。本研究简要介绍心血管疾病相关基因多态性研究进展, 并就常见问题提出一些看法, 供同道参考。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

心血管疾病是由遗传和环境因素共同作用所致的复杂疾病, 其发病过程与多基因之间和基因—环境之间的相互作用有关。与心血管疾病相关的基因有很多, 这些基因单个起作用或联合作用, 还可能与传统易感因素共同作用而增加疾病发生的危险性。目前, 高通量的基因型检测能力的提高引起了人们对流行病学研究中基因分析的广泛关注。由于行为学数据的获得, 使得检测基因—环境之间的相互作用成为可能, 从而提供了更好的途径来了解个人风险。本文简要介绍该领域的有关研究进展。

1 与心血管疾病相关的基因

研究表明, 基因方面的因素导致了心血管疾病易感性的个体差异。遗传因素在所有已知的风险因素中约占 30%~50%。目前, 绝大部分研究都集中在一些已知的候选基因, 如血管紧张素转化酶基因、血管紧张素原基因、亚甲基四氢叶酸酯还原酶基因、对氧磷酶基因以及载脂蛋白 E 基因等。这些基因的多态位点在心血管疾病中的作用虽已获得公认, 但与心血管疾病的确切关系还没有完全达成一致。最近已经发现并确认了一些与心血管疾病相关的基因变异位点。

1.1 亚甲基四氢叶酸酯还原酶

亚甲基四氢叶酸酯还原酶(methylene tetrahydrofolate reductase, MTHFR)是同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)代谢关键酶之一。Hcy 主要通过促进血管内皮细胞损伤、血管平滑肌细胞增殖、脂质过氧化和血液凝固性增高机制, 诱导动脉粥样硬化的发生^[1]。McQuillan 等^[2]通过对 1 111 个样本来研究 MTHFR 的常见变异位点 C667T 是否与血浆中总的 Hcy 水平升高相关, 结果发现高 Hcy 血症是颈动脉壁肥厚和动脉粥

样硬化斑块形成的独立危险因素; 而 MTHFR 的变异位点 C667T 是引起血浆 Hcy 水平升高的一个重要途径, 因而可能有导致颈动脉壁肥厚和动脉粥样硬化斑块形成的危险。Palaud 等^[3]通过对与心血管系统相关的 11 个基因的 16 个多态位点的研究表明男性 C667T 携带者颈动脉内膜中膜厚度相关。但有关这个位点与内膜中膜厚度的相关关系的研究结果并不一致^[2,3]。这可能与样本数量太小, 未能把年龄、性别和吸烟状态等指标进行分类分析有关。最近, Spotila 等^[4]发现 MTHFR 基因型对血浆 Hcy 的影响存在一个年龄依赖的作用, 这或许能解释为什么一些研究没有发现基因型与心血管疾病的相关性。此外, 有研究显示 T 基因型似乎是中风的一个高度危险因素^[5]。

1.2 心肌增强因子 2 A

心肌增强因子 2 A(myocyte enhancer factor 2A, MEF2A)是 Wang 等^[6]对一个拥有 13 个冠状动脉疾病/心肌梗死患者大家族基因组的研究中发现的。他们确定了第一个冠状动脉疾病/心肌梗死的常染色体显性遗传位点, 位于 15q26 处。后又通过对美国一白种人冠状动脉疾病家系的研究发现了在 MEF2A 编码基因第 11 外显子区的 21 bp 缺失的特异性突变, 7 个氨基酸的缺失影响到蛋白质的核定位, 并破坏了基因的转录活性, 该家系中所有冠状动脉疾病患者都存在这一特异的突变。作者报道, 在急性心肌梗死患者中 MEF2A 的这一突变发生概率在 1.93% 左右, 因此认为可以通过筛查这一突变预测冠心病及代谢综合征患者冠心病和急性心肌梗死的发病率。对 200 例无血缘关系的冠状动脉疾病/心肌梗死患者人群研究显示位于第 7 外显子处的 3 个新的多态位点与冠状动脉疾病的严重性呈负相关^[7]。此外, 对西班牙人种的调查表明位于第 11 外显子区 279 位的 Pro279Leu 突变位点是心肌梗死的一个危险因素^[8], 这可能是 MEF2A 279 位脯氨酸变异为亮氨酸后转录活性降低的结果。但是, 随后美国、日本等国学者通过对各自种族人群中 MEF2A 基因的研究却得出了不同的结果^[9,10], 他们认为该基因的突变并不是冠状动脉疾病发生的重要原因。该基因与冠状动脉疾病的相关性研究已成为目前该研究领域的热点问题之一。

[收稿日期] 2007-06-08 [修回日期] 2007-12-01

[基金项目] 国家自然科学基金(30470707)

[作者简介] 许伟伟, 硕士研究生, E-mail 为 happyxuweiwei@yahoo.com.cn。通讯作者范乐明, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为动脉粥样硬化性心血管疾病的基因诊断与基因治疗, E-mail 为 lmfan@njmu.edu.cn。

1.3 5-脂氧合酶激活蛋白

白三烯是作用较强的促炎症因子,在动脉粥样硬化的发生发展中发挥着重要作用。5-脂氧合酶激活蛋白(5-lipoxygenase activating protein, ALOX5AP)则是白三烯合成的关键调控因素。Stefansson 等对冰岛 296 个家族的 713 例心肌梗死患者进行了基因筛选,通过对人类染色体 13q12-13 处的分析,确认了 ALOX5AP 基因可能与心肌梗死和卒中有关。研究发现,ALOX5AP 突变增加了动脉血管壁白三烯的产生和炎症介质的分泌,从而引发血管炎症和动脉粥样硬化的形成,导致管壁狭窄、损坏和破裂。最近,Helgadóttir 等^[11]也发现 ALOX5AP 基因的 4 个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点所构成的单倍型 HapA 在心肌梗死及中风的病理过程中起重要作用。最近的研究表明,ALOX5AP 突变是脑血管病,特别是男性患脑血管病的重要危险因素^[12]。进一步研究也许会为药物抑制 ALOX5AP 从而防止脑血管疾病发生提供一个依据。

1.4 淋巴细胞毒素 α

淋巴细胞毒素 α (lymphotoxin α , LTA) 是肿瘤坏死因子家族的一个成员,是由白细胞产生的一种细胞因子,在炎症反应、免疫反应以及抗病毒反应中发挥着广泛的作用。Ozaki 等^[13]通过对大范围的,基于 92 788 个基因 SNP 位点的病例-对照研究,最终在 94 位日本患者身上确定了 LTA 的一个候选位点与心肌梗死的易感性有关。相关 SNP 的基因分型显示该基因第 1 外显子 10G/A、第 1 内含子 252G/A 和第 3 外显子 Thr26Asn 基因型与高风险的心肌梗死明显相关。活体外功能分析显示 Thr26Asn 基因型使一些细胞粘附因子的水平增加了 2 倍。这些粘附因子包括血管内皮粘附因子 1、细胞间粘附因子 1、E-选择素、肿瘤坏死因子、白细胞介素 1A、白细胞介素 1B 以及人类冠状动脉血管平滑肌细胞。除此之外,在 LTA 的内含子 1 区的 252A/G SNP 也使 LTA 的转录水平增加了 1.5 倍。这些结果都提示增加了 LTA 变异与心肌梗死易感性的关联性。而另一项对无血缘关系个体的病例-对照研究表明,252A/G 和 804C/A 多态性显示出的连锁平衡性表明它们不是心肌梗死的一个标记^[14]。但是在对双亲-先证者三人一组的家族研究结果发现 Thr26Asn 多态位点与冠状动脉硬化也存在一定的相关关系。此外,LTA 可与半乳糖结合凝集素家族的一个成员 galectin 2 (LGALS2) 相结合^[14, 15],而动脉硬化损伤斑块中的平滑肌细胞和巨噬细胞均表达 LGALS2 和 LTA。对日本 2 638 例患者和 2 499 例对照所做的病例-对照关联研究显示 LGALS2 基因内含子 1 区的 3279C/T 多态性位点与心肌梗死明显相关。上述发现都已表明 LTA 与心肌梗死的病理过程有关,但资料主要来自日本,需要在其他人群中的研究中进行进一步验证。

1.5 载脂蛋白 M

载脂蛋白 M 是 Xu 等^[16]新近发现的一个新的进化保守的载脂蛋白。它优势表达于高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)中,也可在富含甘油三酯的载脂蛋白及低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)中出现。人类载脂蛋白 M 基因在成熟肝组织和肾组织中专一、强烈表达。研究报

道,载脂蛋白 M 水平可以作为确定青春晚期糖尿病(maturity-onset diabetes of the young, MODY) 患者的一个有用的血清指标^[17]。Wolfgram 等^[18]提出载脂蛋白 M 通过影响前 β -HDL 的形成,在 HDL 的代谢过程中起非常重要的调节作用,从而调节胆固醇的外流以及发挥抗动脉粥样硬化的作用。他们通过实验证实载脂蛋白 M 基因敲除小鼠体内的前 β -HDL 的形成受到阻碍;而 LDL 受体基因敲除、载脂蛋白 M 基因过表达的小鼠则可以抵抗由高胆固醇饮食引起的动脉粥样硬化性损伤。Niu 等^[19]研究发现,在汉族人群中载脂蛋白 M 基因启动子区域的 T-778C 位点的变异与 2 型糖尿病的形成密切相关。目前对这个载脂蛋白的研究还知之甚少,因而尚不能预测载脂蛋白 M 是否是一个新的动脉硬化的标志性分子。然而,对载脂蛋白 M 多态性以及它们对人类胆固醇逆转运功能方面的研究将会非常有前景。

1.6 磷酸二酯酶 4D

磷酸二酯酶 4D (phosphodiesterase 4D, PDE4D) 基因多态性与缺血性卒中的联系是从冰岛人家族中发现,该研究组对卒中易患基因进行了全基因组筛查,对来自 179 个大型家系中的 476 例卒中患者和他们的 438 位亲属进行了检测,应用多种参数和非参数连锁技术,最终确定了位于染色体 5q12 的编码 PDE4D 的基因与卒中的联系最为密切,尤其是与颈动脉和心源性卒中的相关性,而后两者均与动脉粥样硬化有关^[20]。随后该研究组利用 SNP 和微卫星标记相结合的方法对这个基因进行了细致深入的研究,结果发现 G0-Hc 和 AX-Lc 这两种单倍型组合是最有意义的变量,作为危险单倍型的 G0-Hc,相对危险性为 1.98 ($P < 0.0001$);而作为保护性的单倍型 AX-Lc,相对危险性为 0.68 ($P < 0.003$)。在 17% 的患者和 9% 的对照者中发现了危险性单倍型,在 14% 的患者和 21% 的对照者中发现了保护性单倍型。在带有危险性单倍型的患者中 PDE4D 7 和 PDE4D 9 这种亚型表达明显过低,而其他亚型则与危险型单倍型无显著相关性^[21]。但随后 Bevan 等^[22]在非冰岛人的欧洲人群中所作的调查显示 PDE4D 基因并不是缺血性中风和早期动脉硬化的一个主要危险因素。由李才明等^[23]对中国人群的研究结果也表明 PDE4D 基因 SNP 45 和 SNP 41 与缺血性脑卒中无关。

1.7 二甲基精氨酸二甲氨基水解酶

参与多种心血管系统调节机制的一氧化氮在内皮细胞中由内源性一氧化氮合酶合成。非对称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA) 是一种内源性的一氧化氮合酶竞争性抑制剂,血浆 ADMA 水平升高可抑制一氧化氮的合成,导致血管内皮功能障碍。因此 ADMA 是一种血管内皮功能失调的危险因子,也可能是一种动脉粥样硬化发生直接相关的分子。而内皮细胞内局部的或者全身的 ADMA 浓度的改变又依赖于二甲基精氨酸二甲氨基水解酶(dimethylarginine dimethylaminohydrolase, DDAH) 的表达改变。DDAH 在体内有 DDAH 1 和 DDAH 2 两种存在方式。最近的研究表明冠心病、糖尿病、高血压及心力衰竭等患者血浆 ADMA 水平明显升高,同时一氧化氮活性降低^[24]。在 DDAH 2 基因核心启动子-187 位的一个插入/缺失突变可以影响 DDAH 的

基本转录水平从而影响血浆 ADMA 水平。该多态性暗示了它增加心血管疾病的易感性,一份对 32 名健康个体的研究证实了这一点,但还需要扩大人群调查的范围。更深入的研究应该集中于发现新的引起 ADMA 活性增加的 DDAH 多态性位点及其与心血管疾病的相关性。

1.8 内皮素转化酶 1

内皮素是目前所知的最强的长效缩血管活性多肽,主要由血管内皮细胞合成,其通过自分泌、旁分泌或内分泌等作用,在正常生理活动及某些疾病,尤其是血管病变有关疾病的发生发展中起重要作用。内皮素转化酶(endothelin converting enzyme, ECE) 是内皮素生物合成的关键酶,在体内内皮素生物活性调节中起着极为重要的作用。ECE 分为 ECE-1 和 ECE-2 两种, ECE-1 起主要作用。研究发现由于 ECE-1 基因特异性外显子上游的启动子交替作用从而产生 ECE-1a、ECE-1b、ECE-1c 及 ECE-1d 四种异构体。Funke-Kaiser 等^[25] 研究发现该基因 3 个高度重复的二核苷酸重复片断多态性: 5'-(CA)_n-(CG)_n 和 3'-(CA)_n 对启动子区的功能影响很大。在未治疗的高血压妇女人群中研究发现编码 ECE-1 的基因多态性 G-338A 与血压相关^[26]。这一结果在老年妇女中同样有统计学意义。有人提出这样的假设: A 等位基因通过增加 ECE-1b 浓度而引起内皮素 1 水平升高。然而,这个结论目前还缺乏足够的证据。除此之外, ECE-1 多态性与内皮素 1 基因多态性(EDN1 K198N) 已经证实与肥胖人群的血压水平相关。EDN1 K198N 多态性的功能情况还尚未知晓,有关内皮素 1 水平与不同基因型的关系还有待研究。

2 表达阵列确定心血管疾病相关基因位点的研究

基因组学和蛋白组学方面所取得的最新进展使确定基因变异变得容易。这种基因变异的表达形式的确定是由微阵列分析或者其它与心血管疾病相关的技术方法来实现的。调查显示很多的变异都与内膜中膜厚度相关^[27],例如 LDL 受体的一个新的变异位点(2312-3C/A) 与颈动脉内膜中膜厚度风险性增加有关^[28]。对 36~86 岁男性的研究显示,雄激素受体基因的 CAG 重复片断多态性可能与危重的冠状动脉疾病相关^[29]。研究也发现携带 TNFRSF1A92Q 多态可能与高风险动脉粥样硬化相关,调节破骨细胞活性和破骨细胞分化的骨保护素基因启动子区域的多态性则与高血压病患者的血管形态学有关^[30]。

Archacki 等^[31] 通过表达谱检测技术,在 1 200 个基因中发现了 49 个新的与冠状动脉疾病相关的基因,其中包括调节淋巴细胞间粘附的细胞间粘附因子 2 基因,刺激造血细胞有丝分裂的 PIM-2 基因,促进血管形成的内皮生长因子 1 基因,在内皮细胞中的表达并参与血管生成的 B49 蛋白编码基因以及其它的一些候选基因。这些初步分析的结果是从 32 例严重的动脉粥样硬化疾病患者研究中得来的,有待用大样本的基因流行病学研究再进一步证实。未来基因图谱学研究将成为确定内膜中膜厚度和肥胖基因易感性的依据,因为内膜中膜厚度和肥胖都拥有共同的遗传因子。由于病例一对照研究设计是基于对表型的临床分型而存在明显的局限

性,因为这种分型既受众多疾病因素的影响,也受多个位点及环境因素的影响。因此,病例的选择必须把细致的基于基因风险评估的因素考虑进来,这种基因风险的评估要基于家族疾病史和行为学的信息(包括吸烟、饮酒、毒物接触、消耗及体力等等),也要基于更精细的实验室检测以及临床检测。

3 问题和启示

由于心血管疾病本身的复杂性,与该疾病风险相关的基因学研究方面的成就还很少,该疾病涉及众多基因与环境因素以及他们之间的相互影响。基因之间的相互作用在心血管疾病的病理发展过程中起了很重要的作用。最近的报道已经开始强调相关基因多态性的相互作用。例如,血管紧张素 I 转化酶基因和血管紧张素 II 型受体基因与冠状动脉硬化的发展有关;一项病例一对照研究显示过氧化物增殖物激活型受体(PPAR) Pro12Ala 多态性与载脂蛋白 E 基因 e4 等位基因的相互作用决定了血浆胆固醇水平和冠心病的风险率^[32]。另外,基因与环境的相互作用大于基因与环境因素的附加效应。许多环境因素影响着基因的表达,例如日常血压的调节。最近的研究显示一些多态性都是在某种环境因素存在的条件下才导致发病的风险。例如,血管紧张素转化酶基因等位基因的缺失突变只有对吸烟者才能引起颈动脉的内膜中膜厚度改变^[33], E-选择素基因的 F554 等位基因只增加超重个体的血压^[34]。除此之外,一个有趣的例子可以阐明“基因—基因”、“基因—环境”及“基因—基因—环境”三者之间的相互作用,这就是脂类代谢。载脂蛋白 A5 被认为是一个血浆甘油三酯水平的重要的决定因素。载脂蛋白 A5 T(-1131)C 多态性位点可以增加冠状动脉疾病风险^[35]。这种多态性位点只有在高脂、超重的情况下才影响冠状动脉疾病的发病风险,这种影响比载脂蛋白 E4 多态性的影响更大。由于基因也许只有一个给定的环境因素下才能表达而起作用,对基因—环境相互作用的解释也许可以提高在复杂疾病中检测基因因素的评判能力。除以上基因与基因以及基因与环境之间的相互作用的问题之外,目前的基因多态性研究主要的实际问题之一是基因型的流行病学研究与研究的样本大小有关,导致缺乏统计的可信度。过去检测基因型的途径往往基于一个单独的核苷酸以及单个基因。检测目的是寻找一些联系确定或者导致功能性的突变。这种途径由于没有把单倍型考虑进来而显得局限。

冠心病等重大疾病流行病学研究的主要问题是一些最初发现的数据不能再次重复或者不同的研究小组往往反复出现相互矛盾的结果。剂量—反应分析方法以及分层的分析方法都不能用于分子基因学研究,甚至一些确定的生物学检测方法之间都存在很大的差异,因此,使用多种分析方法时必须慎重。近年来,在心血管疾病基因研究领域已经取得了很大的进展。基因研究中一些明显的技术方面的缺陷也逐步在被克服。首先,运用候选基因方法对已知的基因进行重复试验仍然是一条很重要的途径。其次,在大的家族中进行基因连锁研究也很有前景。第三,基因组分析技术的进步将使得同时筛选上千个与心血管疾病危险相关的基因变得

可能。尤其是利用基因谱分析将可以帮助预测一个人长期的健康状况,从而来制定干预措施,以及选择最有效的治疗药物。病例一对照研究已经显示出很多结果都由于研究对象的选择偏差而变得混淆起来。研究者们不得不重新仔细的根据最终的评估来选择研究对象。例如,在研究血压或者高血压时,需要排除那些正在服用血管活性药物的个体,由于诊断为高血压而服药的个体或者有潜在的患心脏病风险的个体。

所有先前的结果提示在未来的研究设计中必须考虑环境因素的影响,对患者的分组应该基于环境危险因素以及特殊的基因变异因素。将来应重点发展更好的分子和统计技术,以求获得更符合实际的结果。

[参考文献]

- [1] 李季昌, 胡燕燕. 同型半胱氨酸致动脉粥样硬化发病机制的研究进展 [J]. 心血管病学进展, 2001, **22**: 170-172.
- [2] McQuillan BM, Beilby JP, Nidorf M, Thompson PL, Hung J. Hyperhomocysteinemia but not the C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase is an independent risk determinant of carotid wall thickening. The Perth Carotid Ultrasound Disease Assessment Study (CUDAS) [J]. *Circulation*, 1999, **99**: 2383-388.
- [3] Pallaud C, Sass C, Zannad F, Siest G, Visvikis S. APOC3, CETP, fibrinogen, and MTHFR are genetic determinants of carotid intima-media thickness in healthy men (the Stanislas cohort) [J]. *Clin Genet*, 2001, **59**: 316-324.
- [4] Spotila LD, Jacques PF, Berger PB, Ballman KV, Ellison RC, Rozen R. Age dependence of the influence of methylenetetrahydrofolate reductase genotype on plasma homocysteine level [J]. *Am J Epidemiol*, 2003, **158**: 871-877.
- [5] Li Z, Sun L, Zhang H, Liao Y, Wang D, Zhao B, et al. Elevated plasma homocysteine was associated with hemorrhagic and ischemic stroke, but methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism was a risk factor for thrombotic stroke: a Multicenter Case-Control Study in China [J]. *Stroke*, 2003, **34**: 2085-090.
- [6] Wang L, Fan C, Topol SE, Topol EJ, Wang Q. Mutation of MEF2A in an inherited disorder with features of coronary artery disease [J]. *Science*, 2003, **302**: 1578-581.
- [7] Bhagavatula MR, Fan C, Shen GQ, Cassano J, Plow EF, Topol EJ, Wang Q. Transcription factor MEF2A mutations in patients with coronary artery disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2004, **13**: 3181-188.
- [8] Gonzalez P, Garcia-Castro M, Reguero JR, Batalla A, Ordonez AG, Palop RL, et al. The Pro279Leu variant in the transcription factor MEF2A is associated with myocardial infarction [J]. *J Med Genet*, 2006, **43**: 167-169.
- [9] Kajimoto K, Shioji K, Tago N, Tomoike H, Nonogi H, Goto Y, Iwai N. Assessment of MEF2A mutations in myocardial infarction in Japanese patients [J]. *Circ J*, 2005, **69**: 1192-195.
- [10] Weng L, Kavaslar N, Ustaszewska A, Doelle H, Schackwitz W, Hebert S, et al. Lack of MEF2A mutations in coronary artery disease [J]. *J Clin Invest*, 2005, **115**: 1016-020.
- [11] Helgadóttir A, Manolescu A, Thorleifsson G, Gretarsdóttir S, Jónsdóttir H, Thorsteinsdóttir U, et al. The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke [J]. *Nat Genet*, 2004, **36**: 233-239.
- [12] Lohmusaar E, Gschwendtner A, Mueller JC, Org T, Wichmann E, Hamann G, et al. ALOX5AP gene and the PDE4D gene in a central European population of stroke patients [J]. *Stroke*, 2005, **36**: 731-736.
- [13] Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, Sekine A, Yamada R, Tsumoda T, et al. Functional SNPs in the lymphotoxin alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction [J]. *Nat Genet*, 2002, **32**: 650-654.
- [14] Yamada A, Ichihara S, Murase Y, Kato T, Izawa H, Nagata K, et al. Lack of association of polymorphisms of the lymphotoxin alpha gene with myocardial infarction in Japanese [J]. *J Mol Med*, 2004, **82**: 477-483.
- [15] Ozaki K, Inoue K, Sato H, Iida A, Ohnishi Y, Sekine A, et al. Functional variation in LGALS2 confers risk of myocardial infarction and regulates lymphotoxin alpha secretion in vitro [J]. *Nature*, 2004, **429**: 72-75.
- [16] Xu N, Dahlback B. A novel human apolipoprotein (apoM) [J]. *J Biol Chem*, 1999, **274**: 286-290.
- [17] Richter S, Shih DQ, Pearson ER, Wolfrum C, Fajans SS, Hattersley AT, et al. Regulation of apolipoprotein M gene expression by MODY3 gene hepatocyte nuclear factor 1alpha: haploinsufficiency is associated with reduced serum apolipoprotein M levels [J]. *Diabetes*, 2003, **52**: 2989-995.
- [18] Wolfrum C, Poy MN, Stoffel M. Apolipoprotein M is required for prebeta-HDL formation and cholesterol efflux to HDL and protects against atherosclerosis [J]. *Nat Med*, 2005, **11**: 418-422.
- [19] Niu N, Zhu X, Liu Y, Du T, Wang X, Chen D, et al. Single nucleotide polymorphisms in the proximal promoter region of apolipoprotein M gene (apoM) confer the susceptibility to development of type 2 diabetes in Han Chinese [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2007, **23**: 21-25.
- [20] Gretarsdóttir S, Sveinbjornsdóttir S, Jonsson HH, Jakobsson F, Einarsdóttir E, Agnarsson U, et al. Localization of a susceptibility gene for common forms of stroke to 5q12 [J]. *Am J Hum Genet*, 2002, **70**: 593-603.
- [21] 杨晓军. 磷酸二酯酶 4D 基因与缺血性脑卒中 [J]. 国外医学·心血管病分册, 2004, **12**: 310-312.
- [22] Bevan S, Porteous L, Sitzer M, Markus HS. Phosphodiesterase 4D gene, ischemic stroke, and asymptomatic carotid atherosclerosis [J]. *Stroke*, 2005, **36**: 949-953.
- [23] 李才明, 张成, 张鸿炼, 冯慧宇, 苏全喜, 卢锡林. 磷酸二酯酶 4D 基因与缺血性脑卒中的遗传易感性研究 [J]. 2006, **39**: 180-183.
- [24] Jones LC, Tran CT, Leiper JM, Hingorani AD, Vallance P. Common genetic variation in a basal promoter element alters DDAH2 expression in endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **310**: 836-843.
- [25] Funke-Kaiser H, Thomas A, Bremer J, Kovacevic SD, Scheuch K, Bollbrinker J, et al. Regulation of the major isoform of human endothelin converting enzyme 1 by a strong housekeeping promoter modulated by polymorphic microsatellites [J]. *J Hypertens*, 2003, **21**: 211-124.
- [26] Funalot B, Courbon D, Brousseau T, Poirier O, Berr C, Cambien F, et al. Genes encoding endothelin converting enzyme 1 and endothelin 1 interact to influence blood pressure in women: the EVA study [J]. *J Hypertens*, 2004, **22**: 739-743.
- [27] Archacki S, Wang Q. Expression profiling of cardiovascular disease [J]. *Hum Genomics*, 2004, **1**: 355-370.
- [28] Pauciuolo P, Giannino A, De Michele M, Gentile M, Liguori R, Argiriou A, et al. Increased carotid artery intima-media thickness is associated with a novel mutation of low-density lipoprotein receptor independently of major cardiovascular risk factors [J]. *Metabolism*, 2003, **52**: 1433-438.
- [29] Alevizaki M, Cimponeriu AT, Garofallaki M, Sarika HL, Alevizaki CC, Pampichael C, et al. The androgen receptor gene CAG polymorphism is associated with the severity of coronary artery disease in men [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2003, **59**: 749-755.
- [30] Poirier O, Nicaud V, Gariepy J, Courbon D, Elbaz A, Morrison C, et al. Polymorphism R92Q of the tumour necrosis factor receptor 1 gene is associated with myocardial infarction and carotid intima-media thickness—the ECTIM, AXA, EVA and GENIC Studies [J]. *Eur J Hum Genet*, 2004, **12**: 213-219.
- [31] Archacki SR, Angheloiu G, Tian XL, Tan FL, DiPaola N, Shen GQ, et al. Identification of new genes differentially expressed in coronary artery disease by expression profiling [J]. *Physiol Genomics*, 2003, **15**: 65-74.
- [32] Peng DQ, Zhao SP, Nie S, Li J. Gene-gene interaction of PPARgamma and ApoE affects coronary heart disease risk [J]. *Int J Cardiol*, 2003, **92**: 257-263.
- [33] Sayed-Tabatabaei FA, Schut AF, Hofman A, Bertol-Avella AM, Vergeer J, Witteman JC, et al. A study of gene-environment interaction on the gene for angiotensin converting enzyme: a combined functional and population based approach [J]. *J Med Genet*, 2004, **22**: 305-311.
- [34] Marteau JB, Sass C, Pfister M, Lambert D, Noyer-Weidner M, Visvikis S. The Leu554Phe polymorphism in the E-selectin gene is associated with blood pressure in overweight people [J]. *J Hypertens*, 2004, **22**: 305-311.
- [35] Evans D, Buchwald A, Beil FU. The single nucleotide polymorphism -1131T > C in the apolipoprotein A5 (APOA5) gene is associated with elevated triglycerides in patients with hyperlipidemia [J]. *J Mol Med*, 2003 **81**: 645-654.